

**Über den Einfluss einiger Vitalfarbstoffe
und Lokalanästhetica auf
die Sauerstoffdiffusion
am quergestreiften Muskel**

Heinrich Gaebell

Frankfurt 1965

Aus dem Institut für Animalische Physiologie Frankfurt a. Main
Direktor: Prof. Dr. med. K. Wezler

"Über den Einfluß einiger Vitalfarbstoffe
und Lokalanästhetica auf die
Sauerstoffdiffusion
am quergestreiften Muskel"

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Heinrich G a e b e l l
aus Bensberg

Frankfurt am Main 1965

Für die Überlassung des Themas und die
bei den Experimenten freundlich gewährte
Hilfe möchte ich Herrn Prof. Dr. Greven
herzlich danken.



Dekan:	Prof. Dr. Frick
Referent:	Prof. Dr. Greven
Korreferent:	Prof. Dr. Heinz
Mündl. Prüfung:	24. September 1965

INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
Einleitung, Historisches	3
Methodik	8
Ergebnisse	12
a) Vitalfarbstoffe	12
b) Lokalanästhetica	14
c) Kontrollserie	15
d) Tabellen	17
Diskussion	20
a) Die Bedeutung der Membranstruktur auf die Diffusionsvorgänge	21
b) Versuche, das Membranmodell zur Erklärung der Ergebnisse mit Lokalanästheticis zu verwenden	22
c) Zur Wirkungsweise der Farbstoffe auf die Sauerstoffleitfähigkeit	24
Zusammenfassung	26
Literaturverzeichnis	28

Für die Erforschung der Sauerstoffversorgung der lebenden Substanz, die ein biologisches Zentralproblem darstellt (10), ist die Kenntnis der zahlenmäßigen Größe des Diffusionskoeffizienten unentbehrlich (KROGH (19)). Im Rahmen der Arbeiten von THER (31) und GREVEN (10 - 15) über die Sauerstoffdiffusion im Gewebe habe ich Untersuchungen über die Sauerstoffdiffusion am Rattenzwerchfell bei der Gegenwart verschiedener Vitalfarbstoffe und Lokalanästhetica durchgeführt.

Schon FICK (5) stellte Diffusionsgesetze für das atmende Gewebe auf, und sein 1. Diffusionsgesetz lautet in Form einer Differentialgleichung:

$$dn = D \cdot q \cdot \frac{dc}{dz} \cdot dt \quad (Gl.1)$$

(n = Stoffmenge, q = Querschnittsfläche, t = Zeit, dc/dz = räumlich eindimensionaler Konzentrationsgradient). D als Diffusionskoeffizient ist eine Materialkonstante und besagt, welche Stoffmenge im stationären Zustand beim Konzentrationsunterschied eins pro Längeneinheit in der Zeiteinheit den Einheitsquerschnitt passiert (NETTER (25)).

WARBURG (34) gibt uns die Ausgangsgleichung zur Berechnung des Sauerstoffdiffusionskoeffizienten im Gewebe, mit deren Hilfe unsere Versuche durchgeführt werden konnten. Die WARBURGsche Gleichung lautet:

$$b_g = 2\sqrt{2 \frac{D c_o}{A}} \quad (Gl.2)$$

Dabei ist:

b_g = die Grenzschichtdicke des zu untersuchenden Präparates, das eine gewisse Dicke nicht über-

schreiten darf, damit auch die innersten Zellen dieses Gewebestückes ausreichend Sauerstoff aufnehmen können,

D = Diffusionskoeffizient nach KROGH (19) in $\text{cm}^2 / \text{min} \cdot \text{atm}$,

c_0 = Gaskonzentration als O_2 -Partialdruck in atm an der Oberfläche des Präparates,

A = Sauerstoffverbrauch in $\text{cm}^3 / \text{cm}^3$ atmenden Gewebes pro Minute.

THER und HARTMANN (31) entwickelten nach verschiedenen Umformungen der ursprünglichen Gleichung (Gl.2) unter Einbeziehung des 1. FICKschen Gesetzes die neue Arbeitsgleichung (Gl.3) unter der Voraussetzung, daß die Sauerstoffaufnahme unabhängig vom O_2 -Partialdruck bis in die Nähe $P_{\text{O}_2} = 0$ konstant ist. Die Arbeiten von WARBURG sowie diejenigen von BÄNDER u. KIESE (2) geben uns das Recht, bis auf weiteres anzunehmen, daß die Atemgröße A der Volumeneinheit unabhängig vom Partialdruck praktisch bis zum Druck Null konstant bleibt. Die neue Gleichung lautet:

$$V_0^2 = 2 A K c_0 \quad (\text{Gl.3})$$

V_0 = Sauerstoffverbrauch in $\text{cm}^3 / \text{cm}^2$ Gewebsoberfläche pro Minute,

K = der frühere O_2 -Diffusionskoeffizient nach KROGH. Um Verwechslungen mit dem FICKschen Diffusionskoeffizienten auszuschließen, bezeichnen THEWS u. NIESEL (32) den K -Wert als Sauerstoffleitfähigkeit in $\text{cm}^3 \text{O}_2 / \text{cm} \cdot \text{min} \cdot \text{atm}$.

A, c_0 = siehe oben!

GREVEN (10) zeigte die Schwierigkeiten auf, ei-

ne exakte Bestimmung von D aus den A - und b_g -Werten der 2. Gleichung vorzunehmen, da die Schnittdicke beim lebenden Gewebe nur schwer mit der genügenden Genauigkeit zu verändern ist. In der von THER angegebenen Gleichung (Gl.3) ist dagegen die Sauerstoffleitfähigkeit K die einzige Unbekannte und kann nun aus den Meßwerten V_o und A direkt bestimmt werden. Der A -Wert bezeichnet den Sauerstoffverbrauch in $\text{cm}^3 \text{O}_2 / \text{cm}^3$ atmenden Gewebes pro Minute, gemessen an genügend dünnen Schnitten, die eine sog. totale Atmung nach WARBURG aufweisen, weil bei ihnen alle Zellen ausreichend Sauerstoff bekommen können; die Schnittdicke ist kleiner als die Grenzschnittdicke b_g .

V_o bezeichnet den O_2 -Verbrauch pro cm^2 Geweboberfläche pro Minute, wobei die Schnittdicke größer als die Grenzschnittdicke sein muß. Hier werden die innersten Zellen von der Atmung ausgeschlossen, und an diesem Gewebstück läuft insgesamt die sog. partielle Atmung ab. Die normalerweise notwendige Gewinnung der A - und V_o -Werte aus zwei verschiedenen dünnen Gewebstückchen kann nach GREVEN (12) auf einen einfacheren Arbeitsgang reduziert werden, bei dem ein Teil des Präparates in Luft (21 % O_2) nur partiell, der andere Teil bei 100 % O_2 dagegen total atmet, und somit V_o und A an Teilen des gleichen Präparates in einem Versuch bestimmt werden können. Hier muß, wenn die neue Arbeitsgleichung (Gl.3) anwendbar sein soll,

$$\frac{v_{01}^2}{c_{01}} < \frac{v_{02}^2}{c_{02}} \quad \text{und} \quad A_{01} > A_{02} \quad (\text{Gl.4})$$

sein, wobei die Indizes 01 und 02 sich auf 100 % O_2 einerseits und 21 % O_2 (Luft) andererseits beziehen.

Untersuchungen mit Rattenzwerchfellen (35) haben den Vorteil, daß keine Schnitte angefertigt zu werden brauchen und daß zwei annähernd gleich dicke Hälften vorhanden sind, auf die sich obige Ungleichungen (Gl.4) und die 3. Gleichung anwenden lassen.

Die eine Hälfte des Rattenzwerchfells diente zur Bestimmung des V_O -Wertes, bei dem nur die Gewebsoberfläche atmen soll. An der anderen Zwerchfelloberfläche wird der zweite benötigte Wert A bestimmt. Für die Versuche erwiesen sich nach GREVEN (12) 75 bis 160 g schwere Ratten als brauchbar, die eine durchschnittliche Zwerchfelldicke von 0,54 mm aufwiesen. Diese Rattenzwerchfelle waren einerseits dünn genug, um bei Gegenwart von 100 % O_2 total zu atmen, waren aber andererseits für die totale Atmung bei 21 % O_2 (Luft) zu dick, so daß dann lediglich die sog. partielle Atmung ablaufen konnte und die Voraussetzungen zur Anwendung der Gleichung (Gl.3) gegeben waren.

Aus 53 Versuchen bei 20° C. Temperatur ergab sich bei GREVEN (12) ein durchschnittlicher A-Wert von $1,4 \cdot 10^{-2}$, der K-Wert betrug $1,1 \cdot 10^{-5}$. Es ist experimentell nachweisbar und theoretisch einleuchtend (GREVEN, 1961), daß die Sauerstoffleitfähigkeit des Präparates bei 100 %iger O_2 -Sättigung der Badflüssigkeit um 20 % höher als bei Sättigung des Bades mit nur 21 % O_2 ist. Sollen die O_2 -Leitfähigkeiten von Geweben in 21 % O_2 mit Geweben in 100 % O_2 verglichen werden, so sind die ersteren also mit dem Faktor 1,2 zu multiplizieren (12). Der korrigierte Wert der O_2 -Diffusionsleitfähigkeiten bei den Normalversuchen betrug daher $1,3 \cdot 10^{-5}$ und stimmt mit dem KROGH-

schen Wert überein.

Aus der Gleichung (Gl.3) und unter der Berücksichtigung, daß der O_2 -Partialdruck hier 0,21 atm (c_0) betrug, sowie nach den soeben gegebenen Erläuterungen erfolgen die Berechnungen der Diffusionsleitfähigkeiten bei $20^\circ C.$ (K_{20}) für Sauerstoff in $cm^3 O_2 \cdot cm^{-1} \cdot atm^{-1} \cdot min^{-1}$ dann endgültig nach der Gleichung:

$$K_{20} = \frac{1,2}{2 \cdot 0,21 \text{ atm}} \cdot \frac{V_0^2}{A} \quad (Gl.5).$$

Die Durchführung der Versuche bei einer Temperatur von $37^\circ C.$ scheiterte daran, daß bei dieser Temperatur sowohl bei 21 % O_2 als auch bei absolutem Sauerstoff lediglich die partielle Atmung ablief, da bei dieser Temperatur der Sauerstoffverbrauch zu hoch war (12). Die Arbeiten erfolgten daher bei einer Badtemperatur von $20^\circ C.$, nachdem GREVEN 1961 zeigen konnte, daß Zwerchfelle mit einer durchschnittlichen Dicke von 0,54 mm bei $20^\circ C.$ in reinem Sauerstoff total, bei 21 % O_2 dagegen nur partiell atmeten. Bei einer Umrechnung der K_{20} -Werte auf die normalerweise vorliegende Temperatur von $37^\circ C.$ wäre mit einer Zunahme von 1 % pro Grad Celsius zu rechnen (MILLINGTON (24)).

Für die eigenen Versuche sollten Stoffe zur Anwendung kommen, die möglicherweise eine Veränderung der O_2 -Leitfähigkeit des Präparates erwarten ließen. Da sich durch Untersuchungen von GREVEN sowie GREVEN u. SCHUSTER (12, 14) Hinweise dafür ergeben haben, daß die Zellmembranen die Sauerstoffleitfähigkeit herabsetzen, werden für die Versuche Substanzen ausgewählt, von denen bekannt war, daß sie eine Veränderung elektrischer Membran-

eigenschaften bewirkten, mittelbar also vielleicht auch durch Strukturänderungen die Sauerstoffdiffusion veränderten.

Die Lokalanästhetica sind nach FLECKENSTEIN (6) spezifische Hemmstoffe des Austauschs von Natrium und Kalium an der Zellmembran, und von den untersuchten Vitalfarbstoffen war vom Methylenblau bekannt, daß es als basischer Farbstoff das Membranpotential senkt (LEHMANN (20)). Das Eosin scheint auf die Polarisation der Muskelmembran ohne Einfluß zu sein (20), es sollte lediglich als Antagonist zum basischen Methylenblau zur Untersuchung kommen.

Obwohl diese bisher bekannten Veränderungen durch die Zusatzstoffe sich nur auf die Elektrolytpermeabilität der Muskelmembran beziehen, sollte festgestellt werden, ob nicht vielleicht doch die zugesetzten Substanzen den Gasaustausch durch die Membran beeinflussen.

METHODIK:

Die Messungen des Sauerstoffverbrauchs, wobei als Grundlage für die Berechnung der Größe der O_2 -Diffusion die Gleichung (Gl.5) diene, erfolgten an Zwerchfellen weiblicher Albinoratten mit einem Gewicht zwischen 70 und 125 g nach der direkten Methode von WARBURG, bei der die durch die Atmung freiwerdende Kohlensäure laufend von einer 1 %igen Kalilauge absorbiert wird, der CO_2 -Partialdruck auf Null gehalten und der Druck des Sauerstoffs im Reaktionsgefäß direkt gemessen wird. (Einzelheiten über die manometrische Messung s. bei UMBREIT-BURRIS-STAUFFER (33)). Als Badflüs-

sigkeit diente die physiologische Lösung Medium III nach KREBS (18) mit einem Gesamtgehalt an Salzen und Metaboliten von 152,1 mM/L und einem pH von 7,1, welche unmittelbar vor den einzelnen Versuchen aus den Stammlösungen angesetzt wurde. Organische Stammlösungen wurden wöchentlich neu angesetzt und im Kühlschrank aufbewahrt. Kurz vor den Versuchen wurde ein Teil der Badflüssigkeit, die in Eiswasser stand, mit 100 % Sauerstoff 20 Minuten lang durchperlt; diejenigen Reaktionsgefäße, in denen die Gewebestücke nur partiell bei 21 % O_2 atmen sollten, wurden mit der KREBS-III-Lösung zum Eintritt des Gleichgewichts zwischen Lösung und Gas einfach an der Luft stehen gelassen. Weiter wurde in das Zentralgefäß aller Reaktionsgefäße 0,2 ml einer 1 % KOH gegeben, um die anfallende CO_2 zu binden. Darüber hinaus wurde noch, wie üblich, in das Zentralgefäß ein 4-5fach gefalteter Filterpapierstreifen eingelegt, durch den eine größere Absorptionsfläche der KOH im Reaktionsgefäß erreicht werden sollte. Die Schüttelfrequenz betrug 80 pro Minute. Die WARBURG-Apparatur lief 40 Minuten vor Versuchsbeginn an. Die Badtemperatur betrug 20° C.

Die vorbereiteten Reaktionsgefäße wurden bis zum Eingeben der Gewebestückchen mit Korken verschlossen, um neben möglichen Verunreinigungen der Nährflüssigkeit außerdem bei den mit 100 % O_2 durchperlten Flüssigkeiten eine Verminderung der Sauerstoffkonzentration zu vermeiden. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, entblutet; Uhrzeit und Gewicht wurden protokolliert. Nach Freipräparation des Thorax vom Fell wurde mit einer Pinzette der Proc. Xiphoideus gefaßt und der Rippenbogen unter möglichster Schonung des Zwerchfells

ausgeschnitten. Nach Fixation des Rippenbogens auf einem unter KREBS-III-Lösung liegenden Kork in einer Petrischale erfolgte die Präparation des Zwerchfells, wobei die Schnitte möglichst knapp am Sehnenansatzgebiet unter Schonung der Muskelsubstanz geführt wurden.

Die Zwerchfelle wurden danach geteilt. Je eine Hälfte des gleichen Zwerchfells wurde in die vorbereiteten Reaktionsgefäße mit 21 % bzw. 100 % O_2 -gesättigter Badflüssigkeit gelegt. Nach dem Aufstecken der Reaktionsgefäße an die Manometer wurden diejenigen Behälter, die als Gas absoluten Sauerstoff enthalten sollten, nochmals 15 Minuten lang mit 100 % Sauerstoff durchströmt. Während dieser Zeit blieben die Reaktionsgefäße, in denen die partielle Atmung ablaufen sollte, geöffnet an der Luft stehen. Danach wurden alle Behälter für einen Temperatúrausgleich 10 Minuten verschlossen, anschließend die Hähne nochmals kurz zum Druckausgleich geöffnet, und nach weiteren 10 Minuten konnten die ersten Meßwerte abgelesen werden.

Die Ablesungen erfolgten alle 10 Minuten bis zu einer Gesamtdauer von insgesamt 100 Minuten. Nach Beendigung des Versuchs wurden die Präparate an der Luft und mit Filterpapier zart getrocknet und mit einer Torsionswaage gewogen.

Zur Bestimmung der Atmung pro Volumeneinheit (A-Wert) nach Gleichung (Gl.5) konnte das Volumen durch Wägung und unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts ($1,07 \text{ g/cm}^3$) (13) ermittelt werden. Die Oberflächenbestimmung zur Berechnung der Größe V_o (Atmung pro Oberflächeneinheit) erfolgte durch vergrößerte Projektion des ausgebreiteten Zwerchfells auf Papier. Diese Papierstücke wurden

nach der Projektion ausgeschnitten und gewogen. Aus dem Papiergewicht pro cm^2 konnte die Oberfläche der Gewebestückchen festgestellt werden. Nach der Gleichung (Gl.5) erfolgten dann endgültig die Berechnungen der Diffusionsleitfähigkeiten bei 20°C . (K_{20}).

Die Untersuchungen wurden unter Zusatz von je einem sauren und basischen Vitalfarbstoff zur Badflüssigkeit durchgeführt. Zur Anwendung kamen weiterhin verschiedene Lokalanästhetica. Die zugesetzten Substanzen waren:

1. Die Vitalfarbstoffe M e t h y l e n b l a u B (MERCK) und E o s i n J6 (MERCK).
2. Die Lokalanästhetica N o v o c a i n (HOECHST), P a n t o c a i n (HOECHST) und C o c a i n - Hydrochlorid (HOECHST).

Die Zusätze der Vitalfarbstoffe bzw. Lokalanästhetica zur Nährlösung erfolgten in der Art, daß zunächst 0,1 ml einer 100fach stärkeren Farbstoff- bzw. Lokalanästheticumlösung als der zum Versuchszweck gewünschten zu 10 ml Badflüssigkeit gegeben wurden. Aus der Mischlösung wurde in jedes Reaktionsgefäß 3 ml einpipettiert, so daß jetzt Farbstoffe und Lokalanästhetica in der gewünschten geringen Konzentration vorlagen, der Anteil der Zusatzlösung in dem KREBS-III-Milieu aber nur 1 % betrug und praktisch keine Veränderung des osmotischen Druckes durch die Verdünnung eintrat.

Anschließend wurde eine Kontrollserie ohne jeglichen Zusatz durchgeführt, um einen Vergleich zu den von GREVEN (12) angegebenen Normalwerten zu bekommen. Weiterhin wurde geprüft, ob die bei Zusatz von Vitalfarbstoffen und Lokalanästheticis ermittelten verschiedenen K_{20} -Werte sich gegen-

über den unter normalen Bedingungen gefundenen K_{20} -Werten als statistisch signifikant verändert erwiesen.

ERGEBNISSE:

Um des besseren Vergleichs willen sollen zunächst nochmals die Normalwerte nach GREVEN (12) erwähnt werden, die ohne Zusätze bei einer Temperatur von 20° C. für Rattenzwerchfelle in einer reinen KREBS-III-Lösung einen durchschnittlichen A-Wert (Atmung pro Volumeneinheit) von $1,4 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3 \text{ O}_2 / \text{cm}^3 \text{ Gewebe} \cdot \text{Minute}$ und eine Sauerstoffleitfähigkeit $K_{20} = 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ O}_2 / \text{cm} \cdot \text{min} \cdot \text{atm}$ ergaben.

Die durchschnittlichen Lebendgewichte der Ratten betrugen bei den hier vorliegenden Versuchen 104 g bzw. 91 g für Methylenblau- und Rosinzusätze. Bei den Novocain-, Pantocain- und Cocainversuchen lag das mittlere Tiergewicht bei 89 g, 88 g und 85 g.

A. Ergebnisse der Versuche mit Farbstoffen:

1. In der ersten Serie ergaben 28 Versuche mit M e t h y l e n b l a u in einer Konzentration von 1 : 50 000 einen durchschnittlichen K_{20} -Wert von $1,54 \cdot 10^{-5}$ ($\sigma = 0,59 = 38 \%$). Der K_{20} -Wert ist mit $c = 2,66$ nur schwach signifikant gegenüber den Kontrollversuchen von GREVEN (12) verändert. (Unter c verstehen wir die Abweichung in Einheiten der Standardabweichung vom Mittelwert, wobei für biologische Versuche im allgemeinen $c > 3,0$ gefordert wird, wenn eine signifikante Ab-

weichung vorliegen soll). Es zeigte sich also eine erleichterte O_2 -Diffusion bei Methylenblau. Der Atemwert A ist nur geringfügig durch den Methylenblauzusatz verändert worden ($A = 1,53 \cdot 10^{-2}$). Vergleiche Tabelle 1!

2. Elf Versuche mit Methylenblau 1 : 10 000 führten zu einem mittleren K_{20} -Wert von $1,59 \cdot 10^{-5}$ und zu einer deutlichen Steigerung des A-Wertes auf $2,8 \cdot 10^{-2}$ gegenüber den Normalwerten. Es zeigte sich, daß die in dieser Serie ermittelten O_2 -Leitfähigkeiten keine signifikante Veränderung gegenüber den ohne Zusatz angesetzten Vergleichswerten aufwiesen, weshalb auch nach 11 Versuchen diese Reihe abgebrochen wurde.
3. Als Vergleichsreihe zum basischen Farbstoff Methylenblau wurden 25 Versuche mit dem sauren Vitalfarbstoff Eosin in einer Konzentration von 1 : 50 000 durchgeführt, wobei der K_{20} -Wert von $0,89 \cdot 10^{-5}$ ($\sigma = 0,38 = 43 \%$) und der mittlere A-Wert $1,42 \cdot 10^{-2}$ betrugen. Die Versuche mit Eosin zeigten deutlich signifikante Unterschiede für K_{20} zu den Normalwerten ($c = 4,96$). Bei einer offensichtlich erschwerten O_2 -Diffusion war hier die Atemgröße kaum verändert. (Tabelle 1).
4. Die nach WARBURG (Gl.2) unter Einsatz der obigen K_{20} -Werte berechneten Grenzschichtdicken b_g lauten für die Methylenblaureihe:

$$b_g - \text{in } 100 \% O_2 = 0,88 \text{ mm und}$$

$$b_g - \text{in } 21 \% O_2 = 0,40 \text{ mm,}$$
 für die Eosinreihe:

$$b_g - \text{in } 100 \% O_2 = 0,70 \text{ mm sowie}$$

b_g - in 21 % O_2 = 0,32 mm.

Die mittleren Zwerchfelldicken, die, wie im Abschnitt Methodik ausgeführt wurde, zwischen den Grenzschichtdicken für 100 % O_2 und Luft (21 % O_2) liegen sollten, betragen 0,54 mm und fügen sich somit gut in die eben angegebenen Grenzschichtdicken ein.

B. Ergebnisse der Versuche mit Lokalanästheticis:

1. 24 Versuche mit C o c a i n 1 : 3000 zeigten einen durchschnittlichen K_{20} -Wert von $0,91 \cdot 10^{-5}$; der A-Wert betrug $1,42 \cdot 10^{-2}$. Die Sauerstoffleitfähigkeit K_{20} ist wiederum signifikant ($c = 6,0$) gegenüber den Normalwerten gesenkt ($\sigma = 0,27 = 30\%$), während der A-Wert abermals kaum gegenüber den Kontrollwerten verändert ist. (Tabelle 3).
2. In einer weiteren Versuchsreihe fand sich durch N o v o c a i n 1 : 1000 ebenfalls der K_{20} -Wert deutlich gesenkt ($K_{20} = 0,73 \cdot 10^{-5}$; $\sigma = 0,22 = 30\%$), die Senkung ist signifikant gegenüber den Normalwerten verändert ($c = 10,1$), während der A-Wert von $1,38 \cdot 10^{-2}$ nur wenig von dem Wert in normaler Nöhr-lösung abweicht. (Tabelle 2).
3. Schließlich wurden 25 Versuche mit P a n t o - c a i n in einer Konzentration 1 : 15 000 durchgeführt, wobei neben einem A-Wert von $1,34 \cdot 10^{-2}$ ein K_{20} -Wert von $0,74 \cdot 10^{-5}$ resultierte ($\sigma = 0,24 = 32\%$), der wie die O_2 -Leitfähigkeiten der vorherigen Lokalanästheticumversuche signifikant gegenüber den Normalwerten gesenkt war ($c = 8,9$). (Tabelle 2).

4. Die nach WARBURG unter Einsatz der obigen K_{20} -Werte berechneten Grenzschiebtdicken b_g betrugen insgesamt 0,68 mm für reinen Sauerstoff und 0,31 mm für Luft. Die Zwerchfelldicken von durchschnittlich 0,48 mm blieben ebenfalls im Bereich dieser Grenzen.

C. Kontrollversuche:

Die ohne jeglichen Zusatz durchgeführten Kontrollversuche in reinem KREBS-III-Medium (Tabelle 3) ergab für die Atmung einen A-Wert von $1,37 \cdot 10^{-2}$ sowie einen K_{20} -Wert von $1,26 \cdot 10^{-5}$ ($\sigma = 0,41 = 33 \%$), wobei die Standardabweichung nicht signifikant gegenüber den Normalwerten von GREVEN und KROGH verändert war ($c = 0,41$).

Es soll noch auf Fehlermöglichkeiten eingegangen werden. Bei den Versuchen mit Methylenblau 1 : 10 000 zeigte es sich, daß die in dieser Serie ermittelten K_{20} -Werte nicht signifikant gegenüber den Kontrollwerten verändert waren, weshalb auch nach 11 Versuchen diese Reihe abgebrochen wurde. Die Fehlermöglichkeiten entstanden hier durch die Ungenauigkeiten der Gewichts- und Oberflächenbestimmungen an den Zwerchfelhhälften. Die Differenzen der Oberflächenbestimmung vor allem gehen quadratisch in die Ergebnisse ein, da K_{20} proportional V_0^2 ist.

Die nach den Versuchen sonst leicht vorzunehmende Säuberung der Muskelsubstanz vom Sehnen- gewebe war hier durch die sehr starke Anfärbung beider Gewebeanteile erschwert, und ein irrtümliches Abtrennen von Muskelgewebe konnte nicht immer sicher vermieden werden. Dieser Fehler ist bei den

Versuchen mit Methylenblau in der geringeren Konzentration 1 : 50 000 nicht begangen worden, denn das Gewebe war wesentlich geringer angefärbt, so daß Muskel- und Sehnengewebe gut zu unterscheiden waren und ohne Schwierigkeiten der sehnige Ansatz vom Muskelgewebe abgeschnitten werden konnte.

Zum anderen spricht auch die weitgehende Übereinstimmung der A-Werte mit den Normalwerten für A in den Versuchen mit Methylenblau 1 : 50 000 gegen die eben erwähnte Fehlermöglichkeit, denn die Atmung hätte bei einer Mitberechnung der Sehnensatzstücke mehr oder weniger herabgesetzt sein müssen.

Tabelle 1. O_2 -Leitfähigkeit des Rattenzwerchfells
unter dem Einfluß von Farbstoffen.

A = Atmung pro Volumeneinheit in $cm^3 O_2/cm^3$ Gewebe . min . 10^2

$K_{20} = O_2$ -Leitfähigkeit in $cm^3 O_2/cm$. min . atm . 10^5

Temperatur = $20^\circ C$.

Methylenblau 1 : 50 000			Eosin 1 : 50 000		
Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}	Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}
1	1,83	2,67	1	1,19	1,19
2b	0,98	2,56	2b	1,23	0,84
3	1,88	1,30	2c	1,56	1,18
4a	1,75	2,08	3a	1,22	0,92
4b	1,86	1,63	3b	1,43	0,59
5a	1,79	1,00	3c	1,30	0,79
5b	2,04	1,91	4a	1,24	1,23
6a	1,52	1,27	4b	1,46	1,39
6b	1,82	0,72	5a	1,30	1,95
7b	1,23	1,63	5b	1,60	0,64
8a	1,80	1,10	6c	1,11	1,01
8b	2,35	1,41	7a	1,11	0,41
9a	1,56	2,12	8a	0,98	0,98
10a	1,83	1,04	8b	1,20	0,81
10b	1,52	1,75	9a	1,25	0,93
10c	1,17	3,01	9c	1,56	0,67
11a	1,44	2,19	10b	1,36	1,66
11b	1,04	1,62	10c	1,32	0,75
12a	1,36	0,88	11a	1,42	0,49
12b	1,30	2,00	11c	1,41	0,38
13b	1,30	1,67	12b	1,36	0,85
14a	1,68	0,95	12c	1,13	0,78
14b	1,45	0,90	13a	1,49	0,44
15b	1,41	0,87	13b	1,62	0,47
15c	1,21	1,21	13c	1,69	0,95
16a	1,21	1,09			
16b	1,20	1,13			
17b	1,35	1,41			
Mittel	1,53	1,54	Mittel	1,42	0,89
28 Ver- suche		$\sigma = 0,59$ (38%)	25 Ver- suche		$\sigma = 0,38$ (43%)

Tabelle 2. O_2 -Leitfähigkeit K_{20} des Rattenzwerch-
fells unter dem Einfluß von Lokalan-
ästheticis.

Bezeichnungen und Dimensionen wie in Tabelle 1,
Temperatur $20^{\circ} C$.

Novocain 1 : 1000			Pantocain 1 : 15 000		
Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}	Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}
1a	1,36	0,72	1c	1,21	0,82
1b	1,49	0,71	2a	1,16	0,30
1c	1,38	1,05	2b	1,48	0,45
2a	1,43	0,50	2c	1,21	0,22
2b	1,22	0,45	3a	1,71	0,68
2c	1,38	1,19	3b	1,62	0,99
3a	1,56	0,48	3c	1,54	1,17
3b	1,51	0,81	4b	1,10	0,64
3c	1,19	0,83	4c	1,18	0,61
4a	1,45	0,82	5a	1,16	1,13
4b	1,52	0,70	5b	1,15	0,72
4c	1,58	1,30	5c	1,08	0,71
5a	1,05	0,84	6a	1,30	0,95
5b	1,20	0,52	6b	1,38	0,83
5c	1,30	0,74	6c	1,08	0,88
6a	1,40	0,47	7a	1,46	0,54
6b	1,52	0,46	7b	1,27	0,67
6c	1,54	0,96	7c	1,01	0,77
7a	1,14	0,63	8b	1,48	0,66
7b	1,28	0,50	8c	1,41	0,83
7c	1,39	0,78	9a	1,77	1,02
8a	1,32	0,87	9b	1,57	1,03
8b	1,41	0,65	9c	1,52	0,91
8c	1,44	0,65	10a	1,41	0,50
			10b	1,35	0,58
Mittel	1,38	0,73	Mittel	1,34	0,74
24 Versuche	$\sigma = 0,22$		25 Versuche	$\sigma = 0,24$	
	(30%)			(32%)	

Tabelle 3. O_2 -Leitfähigkeit K_{20} des Rattenzwerchfells unter dem Einfluß von Cocain sowie ohne jeglichen Zusatz in reiner KREBS-III-Lösung.

Bezeichnungen und Dimensionen wie in Tabelle 1, Temperatur $20^{\circ} C$.

Cocain 1 : 3000			Kontrollserie		
Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}	Vers.- Nr.	Atmung A	K_{20}
1a	1,42	1,07	1a	1,41	1,31
1b	1,33	0,82	1b	1,50	1,01
1c	1,29	0,76	2a	1,16	0,52
2a	1,40	1,10	2b	1,24	1,51
2b	1,51	0,89	2c	1,10	1,21
2c	1,36	1,51	3a	1,35	0,81
3a	1,28	0,84	4a	1,24	0,99
3b	1,24	0,84	4b	1,49	2,24
3c	1,15	0,71	5a	1,47	1,13
4a	2,06	0,65	5b	1,52	1,74
4b	1,38	0,85	5c	1,40	1,82
5a	1,70	1,22	6a	1,52	0,85
5b	2,08	1,32	6b	1,62	1,17
5c	1,73	1,34	6c	1,02	1,50
6a	1,56	0,57	7a	1,17	1,16
6b	0,98	1,31	7b	1,23	1,02
6c	1,17	0,51	8a	1,46	1,05
7a	1,21	0,78	8b	1,25	0,84
7b	1,35	0,58	9a	1,50	1,36
7c	1,12	0,71	9b	1,98	1,26
8a	1,57	0,77	9c	1,35	2,03
8b	1,43	0,76			
8c	1,26	1,20			
9a	1,42	0,89			
Mittel	1,42	0,91	Mittel	1,37	1,26
24 Versuche $\sigma =$		0,27	21 Versuche $\sigma =$		0,41
		(30 %)			(33 %)

DISKUSSION:

Vor einer zusammenhängenden Besprechung der Ergebnisse möge zunächst ein Mißverständnis ausgeschlossen werden: Die Sauerstoffleitfähigkeit K_{20} ist theoretisch unabhängig von der Größe der Zellatmung in dem Sinne, daß K_{20} nach Gleichung (Gl.3) proportional V_0^2/A ist. Da der Bruch bei gleichem K_{20} konstant bleiben muß, muß also bei einer Atmungssteigerung A entsprechend V_0^2 ansteigen. Daher braucht bei einer Diskussion der veränderten K_{20} -Werte eine A -Veränderung nicht besprochen zu werden.

Bei einer Interpretation der Ergebnisse wird auf die Rolle der untersuchten Substanzen in ihrer Wirkung auf die Diffusion eingegangen werden. Auch die Eigenschaften der Vitalfarbstoffe und Lokalanästhetica als Ladungsträger werden berücksichtigt werden. Die veränderten Diffusionswerte für Sauerstoff bei Versuchen am Rattenzwerchfell unter Zusatz verschiedener Agenzien können nur unter Schwierigkeiten erklärt werden.

Einen Hinweis dafür, daß die Diffusionsvorgänge im Gewebe durch Zellmembranen erschwert werden, haben wir durch die Untersuchungen von GREVEN, der 1961 zeigen konnte, daß die O_2 -Leitfähigkeit in unzerstörtem Lebergewebe erheblich gegenüber Vergleichsversuchen mit Leberhomogenaten vermindert war. Es ist nicht bekannt, wo die Gase durch die Zellmembran permeieren und auf welche Weise dies geschieht.

NETTER (25) berichtet ausführlich darüber, wie alle Tätigkeits- und Erregungszustände der Zellen und des Gewebes mit einer Durchlässig-

keitsveränderung der Zellmembranen für Ionen einhergehen. Auch bei Ionen weiß man nicht, wo und wie sie die Zellmembran passieren, hingegen sind bei Verschiebung des Ionenmilieus Veränderungen bekannt, die sich auch in einer Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels der Zellen und vor allem in Veränderungen der elektrophysiologischen Membraneigenschaften zeigen.

A. Die Bedeutung der Membranstruktur für die Diffusionsvorgänge.

Hier soll zur Besprechung der Ergebnisse das Zellmembranmodell von DANIELLI (4) herangezogen werden. Danach sollen sich innerhalb einer Lipidmembran zwei Proteinfilmte gegenüberliegen (4, 30). Bei der Lipidmembran, die in einer bimolekularen Schicht angeordnet ist, sollen die lipophilen Gruppen dem Membraninneren zugekehrt sein, während die hydrophilen Gruppen nach außen in die wässerigen Phasen hineinragen. Das endoplasmatische Retikulum, das innerhalb der Zelle als ein Netzwerk von Röhren, Säckchen und Bläschen angeordnet ist, scheint einen annähernd gleichen Aufbau wie die Zellmembran zu haben (WOHLFARTH-BOTTERMANN (36)). Schließlich bilden die Mitochondrien als letzter Ort der Oxydation und Sitz der Atmungsfermente (21) in der Zelle Doppelmembranen, die aus zwei bis drei Protein-Lipid-Lamellen bestehen (SCHMIDT (28)). Man muß sich vorstellen, daß alle diese verschiedenen Membranen, welche die Diffusion beeinflussen könnten, im Cytoplasma mehrere wässrige Mischphasen voneinander trennen (15), denn überall haben Untersuchungen der letzten Jahre ergeben, daß von einer Homogenität des Cytoplasmas nicht länger die

Rede sein kann.

B. Versuche, das Membranmodell zur Erklärung der Ergebnisse mit Lokalanästheticis zu verwenden.

Bei Versuchen, die auf eine Veränderung der Diffusionsleitfähigkeit durch einen Zusatz verschiedener Reagenzien abzielen, handelt es sich um kompliziertere Vorgänge, als die zugesetzten Stoffe die Gasdiffusion beeinflußt haben und -da wir eine Membranwirkung annehmen- hier möglicherweise die verschiedenen oben erwähnten Schichten der Zellmembran verändert haben. Man weiß heute zu wenig über die Molekülgruppen der Protein- bzw. der Lipoidschichten der Zellmembran, als daß eine Erklärung der veränderten Diffusionsleitfähigkeiten gegeben werden könnte.

Immerhin hat man verschiedene Phasen- und Grenzflächenmodelle zu Untersuchungen herangezogen, um auf diese Weise gewisse Vorgänge an den Zellmembranen deuten zu können. Oberflächen von Flüssigkeiten haben allesamt das Bestreben, sich zu verkleinern. Es kommt zu einer Verringerung der altbekannten Oberflächenenergie. Filme auf Oberflächen streben dagegen eine Verminderung der Oberflächenspannung an, und derjenige Druck, mit dem die auf Oberflächen gespreiteten Filme der Oberflächenverkleinerung entgegenwirken, wird der Spreitungsdruck genannt.

Für die Lokalanästhetica hat SKOU (30) nachgewiesen, daß sie den Spreitungsdruck monomolekularer, über Wasser ausgebreiteter Lipoidfilme erhöhen. Ein erhöhter Spreitungsdruck bei Lipoidschichten in Zellmembranen könnte dann über eine Engerstellung der Molekülzwischenräume zu einer

erschweren Sauerstoffdiffusion wie bei unseren Versuchen geführt haben.

Einen weiteren Hinweis auf die Membranaktivität der hier verwandten Stoffe finden wir bei SHANES u. GERSHFELD (29), die durch Versuche an Stearinsäurefilmen zeigen konnten, daß Veratrumalkaloide eine Verminderung des Oberflächenspreitungsdruckes bewirkten, während wie in den von SKOU beschriebenen Versuchen Novocain auch hier den Spreitungsdruck erhöhte. SHANES spricht dann auch von sog. "labilizern" und "stabilizern". Es wäre denkbar, daß ein "stabilizer" wie Novocain über eine Zunahme des Spreitungsdruckes die Membran gewissermaßen abdichten und somit die Ionenpermeabilität dieser künstlichen Membranstrukturen herabsetzen könnte (SKOU (30)).

Es sind außerdem über die Lokalanästhetica andere Versuche beschrieben worden, welche auf eine Beeinflussung des Ionenaustausches hindeuten, die sich in das eben beschriebene Bild einer Permeabilitätsveränderung gut einfügen. FLECKENSTEIN (6 - 9) ging dabei von der lange bekannten Tatsache aus (PFLÜGER (26)), daß bei einer Durchströmung mit Gleichstrom die Erregbarkeit und Leitfähigkeit von Muskel und Nerv im Bereich der Anode vermindert sind (Anelektrotonus), im Gebiet der Kathode dagegen erhöht sind, ja, daß der Muskel unter der depolarisierenden Kathode sogar mit einer lokalen Erregung antworten kann (Katelektrotonus). Ähnliche Zustände lassen sich auch durch Pharmaka herbeiführen. FLECKENSTEIN wies nach, daß die Eigenschaft der Lokalanästhetica, reversibel jede Nervenleitung blockieren zu können, auf einer Hemmung des Natrium-Kalium-Austausches an der Membran beruhte. Bei der Un-

tersuchung einer Reihe von Kontrakturstoffen (Kalium, Veratrin, Nicotin, Chinin) stellte er den -in Klammern erwähnten- "Katelektrotonika", die in mancher Hinsicht membran-permeabilitäts-steigernd wirkten und welche die gleichen Stoffe zu sein schienen, welche oben als "labilizer" (SHANES) bezeichnet wurden, eine andere Stoffgruppe (u.a. Calcium-Ionen, Lokalanästhetica) gegenüber, die wie eine Anode die Depolarisation der Nervenfasern verhindern und rückgängig machen konnte, also membran-permeabilitäts-verringern und als "stabilizer" wirkte.

GREVEN u. SCHUSTER (14) untersuchten die Veränderungen der Sauerstoffleitfähigkeit am Rattenzwerchfell durch erhöhte Kalium- und Calciumkonzentrationen im Vergleich zum normalen Nährmedium nach KREBS (18) und erhielten einen deutlich erhöhten Koeffizienten der O_2 -Leitfähigkeit von $K_{20} = 1,6 \cdot 10^{-5}$ bei Kalium-reicher Lösung, dagegen einen verringerten K_{20} -Wert von $0,7 \cdot 10^{-5}$ bei der Gegenwart von Calcium-Ionen.

Folgt man FLECKENSTEINS Gedanken, daß die Ca^{++} -Ionen und Lokalanästhetica zur Gruppe der "Anelektrotonika" gehören, so ist wie beim Ca^{++} -reichen Milieu auch bei der Gegenwart von Lokalanästheticis eine verminderte O_2 -Leitfähigkeit zu erwarten, und das trifft in den eigenen Versuchen auch tatsächlich zu.

C. Zur Wirkungsweise der Vitalfarbstoffe auf die Sauerstoffdiffusionsleitfähigkeit.

Nun zu den Vitalfarbstoffen: Wenn man sich vor Augen hält, daß Änderungen der Membranfunktionen

vielfach mit Änderungen des Ionengleichgewichts an der Membranoberfläche verbunden sind, kann man indirekt etwas über Membraneigenschaften aussagen, die durch Farbstoffe etc. verändert wurden, wenn man wie KLINGENBERG (16, 17) die Vitalfarbstoffe als entgegengesetzte Ladungsträger auffaßt. Dabei wird es dann darauf ankommen, unabhängig von einzelnen Farbstoffeigenschaften hier gemeinsame Eigenschaften basischer und saurer Substanzen festzustellen (16).

KLINGENBERG untersuchte mehrere positiv geladene Substanzen "unterschiedlichen chemischen Charakters" wie z.B. Protamin, Toluidinblau, Colchizin in ihrer Wirkung auf die glatte Muskulatur und fand bei allen diesen positiv geladenen Stoffen eine Muskelverkürzung sowie peristaltische Bewegungen, wobei eine direkte Proportion zwischen Substratkonzentration und Muskelverkürzung bestand.

Bei der Prüfung negativer Stoffe (u.a. Eosin) wurde bei der gesamten Gruppe eine entgegengesetzte Wirkung wie bei den basischen festgestellt. Für das Methylenblau hatte schon LUNDBERG (23) eine erregende Wirkung an der glatten Muskulatur festgestellt. Auch BELLER u. KRAUSS (3) beschrieben eine Erregung der glatten Uterusmuskulatur durch basische Farbstoffe. Eine Depolarisation des Ruhepotentials an der einzelnen Skelettmuskelfaser des Frosches bemerkten LING u. GERARD (22) nach Methylenblauzusatz, und in neueren Versuchen mit basischen Vitalfarbstoffen fand LEHMANN (20) am M. Sartorius des Kaltblüters ein sinkendes Ruhepotential proportional der Stärke des Farbstoffes. LEHMANN konnte allerdings "keine Beziehungen zwischen bekannten physikalisch-chemischen

Eigenschaften der basischen Farbstoffe und dem Einfluß auf das Ruhepotential auffinden" (20).

Möglicherweise ergibt sich also für die basischen Farbstoffe ein Parallelismus mit permeabilitätssteigernden "labilizers" (29) und den "Katelektrotonicis" (6), während umgekehrt saure Farbstoffe den permeabilitätssenkenden "stabilizers" und "An-elektrotonicis" parallel zu setzen wären. Wie in den Versuchen mit Lokalanästheticis wirken auch hier "labilizer" begünstigend, "stabilizer" dagegen hemmend auf die Sauerstoffdiffusion.

ZUSAMMENFASSUNG:

In der vorliegenden Arbeit werden frühere Versuche von GREVEN (10, 11, 12, 14) über die Sauerstoffdiffusion im Gewebe fortgeführt, wobei die unter Anwendung einer Gleichung (Gl.3) von THER (31) aus Atemwerten in der WARBURG-Apparatur berechneten KROGHschen Diffusionskoeffizienten für Sauerstoff einem Vorschlag von THEWS u. NIESEL (32) entsprechend O_2 -Leitfähigkeiten (K_{20}) in $cm^3 O_2 \cdot cm^{-1} \cdot min^{-1} \cdot atm^{-1}$ genannt werden.

Im Vergleich zu dem Normalwert von $K_{20} = 1,3 \cdot 10^{-5}$ (GREVEN (12), KROGH (19)) ergaben die Versuche mit dem basischen Methylenblau (1:50000) eine durchschnittliche vermehrte O_2 -Leitfähigkeit von $K_{20} = 1,54 \cdot 10^{-5}$, während bei der Eosinreihe (1:50000) der K_{20} -Wert nur $0,89 \cdot 10^{-5}$ betrug, also vermindert war. Sämtliche Versuche mit den Lokalanästheticis Cocain (1:3000), Novocain (1:1000) und Pantocain (1:15000) führten mit $K_{20} = 0,91$ bzw. $0,73$ und $0,74 \cdot 10^{-5}$ zu einer Verminderung der O_2 -Leitfähigkeit gegenüber den angegebenen sowie

den eigenen Normalwerten. Alle diese in 5 Serien ermittelten Unterschiede gegenüber den Kontrollwerten waren statistisch signifikant. Eine Kontrollserie ohne Zusatzstoffe zur Badflüssigkeit ließ für die O_2 -Leitfähigkeit K_{20} und den Atemwert A keine statistisch signifikanten Unterschiede gegenüber den Normalversuchen von GREVEN (12) erkennen.

Da Zellmembranen die O_2 -Diffusion herabzusetzen scheinen (GREVEN (12)), wird unter Verwendung des Zellmembranmodells von DANIELLI (4) die Wirkung der zugesetzten Reagenzien auf die Zellmembran diskutiert, da möglicherweise Änderungen der Membranstruktur die Gasdiffusion beeinflussen könnten. Eine endgültige Deutung der Ergebnisse scheitert an dem heute noch zu wenig erforschten Membranaufbau. Es wird darauf hingewiesen, daß auch innerhalb der Zelle befindliche Membranen die O_2 -Diffusion erschweren könnten.

LITERATURVERZEICHNIS:

- (1) Aebi, H.: *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta* 8, 525 (1950)
- (2) Bänder, A. u. M. Kiese: *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* 224, 312 (1955)
- (3) Beller, F.K. u. W. Krauss: *Gynaecologia* 140, 273 (1955)
- (4) Danielli, J.F.: *Surface Phenomena in Chemistry a. Biology*, London Pergamon Prs. (1958)
- (5) Fick, A.: *Pogg. Ann.* 94, 59 (1855)
- (6) Fleckenstein, A.: "Der Natrium-Kalium-Austausch als Energieprinzip in Muskel und Nerv", Springer-Verlag, Berlin (1955)
- (7) Fleckenstein, A.: *Pflügers Arch.* 250, 643 (1948)
- (8) Fleckenstein, A. u. A. Hardt: *Klin. Wschr.* 27, 360 (1949)
- (9) Fleckenstein, A., E.Wagner u. K.H. Göggel: *Pflügers Arch.* 253, 38 (1950)
- (10) Greven, K.: *Pflügers Arch.* 269, 38 (1959)
- (11) Greven, K.: *Pflügers Arch.* 271, 14 (1960)
- (12) Greven, K.: *Pflügers Arch.* 273, 353 (1961)
- (13) Greven, K.: *Persönl. Mitteilung*
- (14) Greven, K. u. J.Schuster: *Nat.Wiss.* 50, 377 (1963)
- (15) Greven, K., H.Gaebell u. J.Schuster: *Pflügers Arch.* 279, 214 (1964)
- (16) Klingenberg, H.G.: *Z.f.Biol.* 108, 312 (1956)
- (17) Klingenberg, H.G. u. W.Lipp: *Z.f.Biol.* 111, 428 (1960)
- (18) Krebs, H.A.: *Biochem.Biophys.Acta* 4, 249 (1950)

- (19) Krogh, A.: J. Physiol. (London) 52, 391 (1919)
- (20) Lehmann, H.J.: Pflügers Arch. 259, 294 (1954)
- (21) Leybold, K. u. H.J. Staudinger: Deut. Med. Wschr. 87, 1989 (1962)
- (22) Ling, R. u. R.W. Gerard: Nature 165, 113 (1950)
- (23) Lundberg, H.: Scand. Arch. Physiol. 45, 237 (1924)
- (24) Millington, R.J.: Science 122, 1090 (1955)
- (25) Netter, H.: "Theoretische Biochemie", Springer, Berlin (1959)
- (26) Pflüger, E.: "Untersuchungen über die Physiologie des Elektrotonus", Berlin (1859)
- (27) Ruska, H.: Hippokrates 34, 253 (1963)
- (28) Schmidt, W.: Z.f.Zellforschg. 58, 573 (1962)
- (29) Shanes, A.M. u. N.L. Gershfeld: J. gener. Physiol. 44, 345 (1960)
- (30) Skou, J.C.: J. Pharm. Pharmacol. 13, 204 (1961)
- (31) Ther, L.: Habilitationsschrift, Frankfurt a. M. (1949)
- (32) Thews, G. u. W. Niesel: Pflügers Arch. 268, 318 (1959)
- (33) Umbreit, W.W., R.H. Burris u. J.F. Stauffer: "Manometric Techniques", Minneapolis (1957)
- (34) Warburg, O.: Biochem. Z. 142, 317 (1923)
- (35) Warburg, O.: Z. klin. Chem. 1, 33 (1963), zitiert nach L. Ther: "Grundlagen d. exp. Arzneimittelforschg.", Wiss. VerlagsG.m.b.H., Stuttgart (1965)
- (36) Wohlfarth-Bottermann, K.E.: Nat.Wiss. 50, 237 (1963)

LEBENS LAUF:

Am 2.5.1938 wurde ich, Heinrich Gaebell, als Sohn des damaligen Studienassessors Heinrich Gaebell und seiner Ehefrau Margarete, geb. Heling, in Bensberg (Rheinisch-Bergischer Kreis) geboren. Im Jahre 1939 wurde mein Vater nach Stolp i. Pom. versetzt. Nach der Flucht im Jahre 1945 lebten wir bis 1947 in Schwerin/Mecklenburg und von 1947 - 1950 in Marburg/Lahn. Seither wohnen wir in Karlshafen/Weser.

Ich besuchte zunächst die Landgraf-Karl-Schule in Karlshafen, bestand 1958 die Reifeprüfung an der Albert-Schweitzer-Schule in Hofgeismar und studierte danach zwei Semester Philologie an der Marburger Philipps-Universität. Im Mai 1959 begann ich das Studium der Medizin an der Marburger Universität, legte nach dem 2. Semester die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab und bestand 1961 nach dem 5. Semester die ärztliche Vorprüfung.

Nach zwei weiteren Semestern in Marburg und Kiel studierte ich von 1962 ab an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt a. Main. Im Januar 1965 beendete ich mein Studium in Frankfurt mit dem medizinischen Staatsexamen.

Frankfurt/Main, den 20.4.1965 H. Gaebell.

VERZEICHNIS MEINER AKADEMISCHEN LEHRER:

Universität Marburg:

Prof. Dr.	Walcher	Physik
Prof. Dr.	Dimroth	Chemie
Prof. Dr.	Seidel	Zoologie
Priv.-Doz. Dr.	Kessler	Botanik
Prof. Dr.	Niessing	Anatomie
Prof. Dr.	Petry	Anatomie
Prof. Dr.	Oksche	Anatomie
Prof. Dr.	Bücher	Biochemie
Prof. Dr.	Schmitz	Biochemie
Prof. Dr.	Hensel	Physiologie
Prof. Dr.	Bock	Innere Medizin
Prof. Dr.	Schwaiger	Chirurgie
Prof. Dr.	Huber	Frauenheilkunde
Prof. Dr.	Gedigg	Pathologie

Universität Kiel:

Prof. Dr.	Doerr	Pathologie
Prof. Dr.	Hörmann	Frauenheilkunde
Prof. Dr.	Reinwein	Innere Medizin
Prof. Dr.	Wanke	Chirurgie

Universität Frankfurt:

Prof. Dr.	Greven	Physiologie
Prof. Dr.	Rotter	Pathologie
Prof. Dr.	Lapp	Pathologie
Prof. Dr.	Kahlau	Pathologie
Prof. Dr.	Zimmermann	Pathologie
Prof. Dr.	Herzberg	Hygiene
Prof. Dr.	Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr.	Schümann	Pharmakologie
Prof. Dr.	Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr.	Frey	Innere Medizin
Prof. Dr.	Schöffling	Innere Medizin

Prof. Dr.	Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr.	Ungeheuer	Chirurgie
Prof. Dr.	Güntz	Orthopädie
Prof. Dr.	Käser	Frauenheilkunde
Prof. Dr.	Heller	Frauenheilkunde
Prof. Dr.	Schwenzer	Frauenheilkunde
Prof. Dr.	Weiß	Kinderheilkunde
Prof. Dr.	Strnad	Strahlenkunde
Prof. Dr.	Mittermaier	Hals-Nasen-Ohren- heilkunde
Prof. Dr.	Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr.	Lieb	Augenheilkunde
Prof. Dr.	Otto	Augenheilkunde
Prof. Dr.	Zutt	Neurologie
Prof. Dr.	Frowein	Neurologie
Prof. Dr.	Herrmann	Dermatologie
Prof. Dr.	Leonhardi	Dermatologie
Prof. Dr.	Starck	Anatomie
Prof. Dr.	Frick	Anatomie
Prof. Dr.	Gerchow	Gerichtsmedizin
Prof. Dr.	Artelt	Geschichte der Me- dizin
Prof. Dr.	v. Reckow	Zahnheilkunde

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG:

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

"Über den Einfluß einiger Vitalfarbstoffe
und Lokalanästhetica auf die Sauerstoff-
diffusion am quergestreiften Muskel"

im Institut für Animalische Physiologie Frankfurt/Main unter Leitung von Prof. Dr. med. K. Greven ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Einige Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden auszugsweise im Rahmen einer gemeinsamen Veröffentlichung von GREVEN, K., H. GAEBELL u. J. SCHUSTER in folgendem Publikationsorgan:
"Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie
279, 214 - 227 (1964)" veröffentlicht.

H. Gucke H.

Frankfurt/Main, den 20. 4. 1965

